

# Dietary fiber が消化管におよぼす栄養整理的効果に関する研究- とくに, 腸内常淨在菌そうの関与の面から -

著者	駒井 三千夫
号	307
発行年	1982
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/15972">http://hdl.handle.net/10097/15972</a>

氏 名（本籍）  
こま い み ち お  
駒 井 三 千 夫

学 位 の 種 類  
農 学 博 士

学 位 記 番 号  
農 博 第 3 0 7 号

学位授与年月日  
昭和 5 8 年 3 月 2 5 日

学位授与の要件  
学位規則第 5 条第 1 項該当

研 究 科 専 攻  
東北大学大学院農学研究科  
（博士課程）食糧化学専攻

学 位 論 文 題 目  
Dietary Fiber が消化管におよぼす栄養  
生理的効果に関する研究  
—とくに，腸内常在菌その関与の面から—

論文審査委員（主 査）

教授 木 村 修 一      教授 玉 手 英 夫

教授 金 田 尚 志

# 論文内容要旨

## 序 論

Dietary Fiber (以降DFと略) とは, 「ヒトの消化酵素によって消化されない植物細胞壁成分」と定義されるものである。DFは, “residue” とか “roughage” と呼ばれ, 消化器に負担をかけ栄養素の利用効率を低下させるなどの理由で, 栄養素中心的な考え方が支配的であった栄養学では, むしろ軽視されてきたものといえる。

ところが, 最近になって Trowell や Burkitt がアフリカにおける長年の疫学調査により, 欧米先進国で発症率が高い大腸癌や大腸憩室症などの疾患が, DF摂取量の低下と深い関係のあることが示されてきて以来, にわかにその生理的効果の面から見直されてきている。こうした疾病のDFによる防御効果は, 消化管の生理や機能の変化を介して現われるものと考えられるため, これまでにもDFの消化管におよぼす影響については数多くの研究がなされてきた。しかし, 粘膜上皮細胞の動態からみた研究や腸内常在菌その関与の面からの研究は, ほとんどなされてきていない。

本研究では, DFとしては, その物理的性質と腸内細菌による分解性が異なるとされるセルロース (水不溶性で腸管内で “slightly fermentable”) とペクチン (水溶性で腸管内で “readily fermentable”) の2種を取り上げ, DFが消化管におよぼす栄養生理的効果について, 上皮細胞の動態への影響を中心に研究が行なわれた。また, 本研究は, 腸内常在菌が存在しない Germfree 動物 (無菌動物) と Conventional 動物 (通常動物) を実験動物として用い, この両者を比較することにより, DFが消化管におよぼす栄養生理的効果への腸内常在菌その関与について検討した点が特徴といえる。

## 第1章 滞腸時間と消化管のサイズにおよぼすDF摂取の影響と腸内常在菌その関与

ICR系 (雄, 2ヶ月齢) の Conventional および Germfree マウスを用い, 金網ケージで個別飼育した。食餌条件は, 表1に示すように, DFを含まない Fiber-free 食 (FF) と種々の量で添加したセルロース食 (5% = 5C, 15% = 15C, 30% = 30C), および20%ペクチン食 (20P) の5群を設けた。ただし, 実験の都合上セルロース添加実験とペクチン添加実験とは別途に行なった。8日間食餌条件に馴化させた後に, 3日間摂食量と排泄量, そして排泄頻度等を測定した。その後, 酸化第二クロムで着色した餌を与えて滞腸時間を測定した。その後さらに実験食を与え続け, 実験開始後4週間目に動物を屠殺し, 消化管のサイズを測定した。

その結果, 食餌中のDF含量が増すと摂食量が増えると同時に排泄量も増えることが Conventional 下で観察されたが, Germfree 下でも同様の結果を得た (表2)。セルロースは糞便の水分含量を低下させ, ペクチンは増加させることが, 両環境下において認められた。

表 1 COMPOSITION OF BASAL DIET

	g/100g diet
Casein	20.0
Potato starch	68.0
Corn oil	5.0
Salt mix	4.8
Vitamin mix	2.0
D,L-Methionine	0.2

COMPOSITION OF EXPERIMENTAL DIETS

Group	Basal diet	Cellulose	Pectin
Fiber-free (FF)	100	-	-
5% Cellulose (5C)*	95	5	-
15% Cellulose (15C)	85	15	-
30% Cellulose (30C)	70	30	-
20% Pectin (20P)**	80	-	20

\* Avicel® PH-101. \*\* From citrus.

表 2 Body weight changes, food intake and stool excretion of mice fed a fiber-free diet, graded levels of cellulose diet, and a high-pectin diet

Group	No of mice	Body weight		Food intake	Feces daily excretion		Feces water content
		Initial	Final		dry wt.	frequency	
		g	g	g/day	g/day	The no. of feces	%
Experiment 1							
GF-FF	9	32.6	32.9	3.9	0.189±0.025*	19.9±2.1*	68.0±2.5*
GF-5C	8	32.8	34.4	4.6	0.735±0.035	49.5±3.4	50.4±1.1
GF-15C	8	32.8	34.8	4.8	1.183±0.056	68.9±2.0	33.4±1.5
GF-30C	9	32.8	32.9	5.9	2.042±0.035	95.7±3.2	47.2±2.3
CV-FF	9	37.6	38.6	4.3	0.329±0.013	36.8±1.6	49.3±3.3
CV-5C	9	35.8	38.0	4.6	0.627±0.035	49.2±3.2	36.9±2.0
CV-15C	9	35.0	36.3	4.8	1.054±0.054	60.3±2.2	35.6±1.6
CV-30C	9	38.1	38.4	6.5	2.148±0.126	86.2±3.2	26.3±2.7
Experiment 2							
GF-FF	8	29.9	29.9	3.7	0.380±0.027	30.0±1.3	60.0±1.5
GF-20P	8	30.1	30.3	4.3	1.510±0.057	95.9±2.8	68.9±1.2
CV-FF	9	37.2	38.0	4.9	0.337±0.023	38.1±2.6	36.0±1.9
CV-20P	9	37.0	31.6	5.5	1.449±0.067	64.8±4.0	60.9±1.5

\*, Mean ± SE

高セルロース食または高ペクチン食による滞腸時間の短縮は、腸内常在菌その存在に関係なくみられたので、高DF食による滞腸時間短縮効果は、DFが腸内容物の量を増やすなどの物理的刺激で直接的に腸管に作用していることが示唆された（図1）。

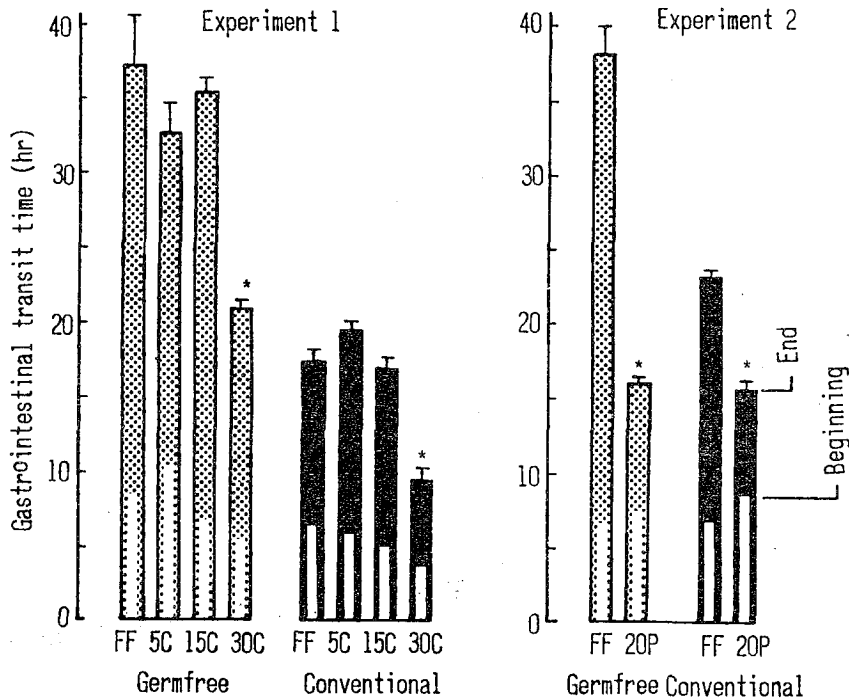


図1 Gastrointestinal transit time in germfree and conventional mice fed a fiber-free diet, graded levels of cellulose diet, or a high-pectin diet. Results are means  $\pm$  SE. \* Significantly different from FF group at  $p < 0.001$ .

消化管のサイズは、セルロース摂取によつては一般に大きな変化があつたとはいえないが、高ペクチン食によつては、小腸・盲腸・結腸のサイズが膨大することが両環境下において観察された（表3）。

以上のように、マクロな面からみたDF摂取による消化管のレスポンスに関する限り、腸内菌その関与はそれほど大きくないとみなされた。

表3 Effect of high-fiber ingestion on the wet weight of liver and alimentary tract and the length of intestine in germfree and conventional mice.

Group	Body wt. (g)	Wet weight			Length		
		Liver (mg/BW)	Stomach # (mg/10g BW)	Cecum # (mg/10g BW)	Small intestine (cm/100g BW)	Cecum (cm/100g BW)	Colon (cm/100g BW)
Germfree							
FF (8)	29.4±0.8	30.5±0.7	59.8±1.7	38.1±2.2	167.0±4.4	14.3±0.9	33.2±0.7
20P (8)	27.7±0.3	31.9±0.7	62.7±1.5	55.6±1.7**	182.0±2.2*	18.1±0.7*	40.0±1.3**
30C (8)	27.9±0.6	33.0±0.5	65.3±0.8	39.1±1.6	171.6±3.8	13.2±0.3	32.8±0.9
Conventional							
FF (9)	36.3±0.9	39.2±0.8	67.7±4.7	28.4±1.4	126.3±2.6	5.4±0.3	21.8±0.9
20P (9)	30.1±1.0	39.6±1.3	70.2±2.5	70.6±4.0**	160.1±7.5**	9.4±0.5**	30.1±1.4**
30C (9)	35.8±0.8	39.2±1.4	66.4±2.5	25.4±1.0	128.8±5.4	5.8±0.4	22.9±0.8

Results are means±SE. Figures in parentheses show the number of animals.

# Without content. \* p<0.01, \*\* p<0.001, compared with FF group of each state.

## 第2章 胃と結腸の上皮細胞の動態におよぼすD F摂取の影響と腸内常在菌そうの関与

D Fの消化管粘膜上皮細胞の動態におよぼす影響は、消化管のどの部位においても等しく現われるのか否か、あるいは、腸内常在菌そうを介して現われるのか否かを知る目的で、実験食を4週間与えた後に、マウスに<sup>3</sup>H-チミジン を腹腔内投与して胃体部と下行結腸について常法通りのマイクロオートラジオグラフィーを行ない、migration chase法により粘膜上皮細胞の動態を検討した。

### 1) 胃粘膜被蓋上皮細胞の動態

実験食は、FFと20Pおよび30Cの3群を設けた。この結果、一般に Germfree 下での細胞の turnover が、Conventional 下でのそれよりも遅いことが示された (図2)。一方、D F摂取によっては両環境下において構成細胞数 (胃小窩の深さ) も細胞の turnover もほとんど変化を受けないことが明らかにされた。

### 2) 結腸上皮細胞の動態

#### ① セルロース添加食の影響

セルロース含量が多い場合には (15C群と30C群)、Germfree 下においてのみ細胞の turnover の亢進が認められた (図3)。このときのGF-30C群の上皮細胞の分裂活性は、FF群よりも3倍以上高い値を示した (表4)。一方 Conventional 下においては、何らセルロース摂

取による影響は認められなかった（図3, 表4）。

## ② ペクチン添加食の影響

高ペクチン食によっては、Conventional 下においてのみ細胞の turnover の亢進が認められた（図4）。このときの上皮細胞の分裂活性は、20P群ではFF群よりも約3倍の高値を示した（表4）。一方、Germfree 下においては、高ペクチン食によって細胞数は増えたが、turnover は不変であった。

以上のことから、DF摂取の影響は、食物残渣の滞留時間が長い消化管下部でより強く現われていることがわかり、また、これは腸内常在菌その関与を受けて現われている現象であることが示された。

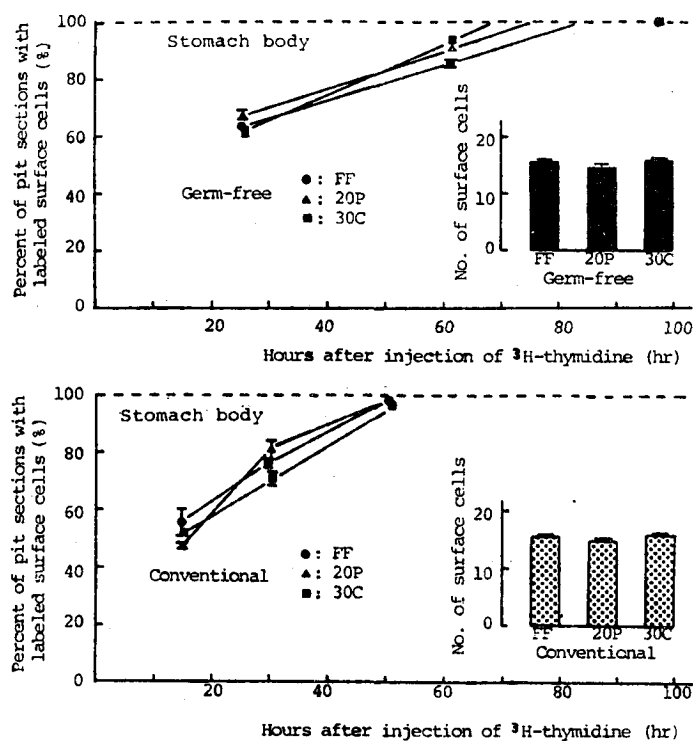
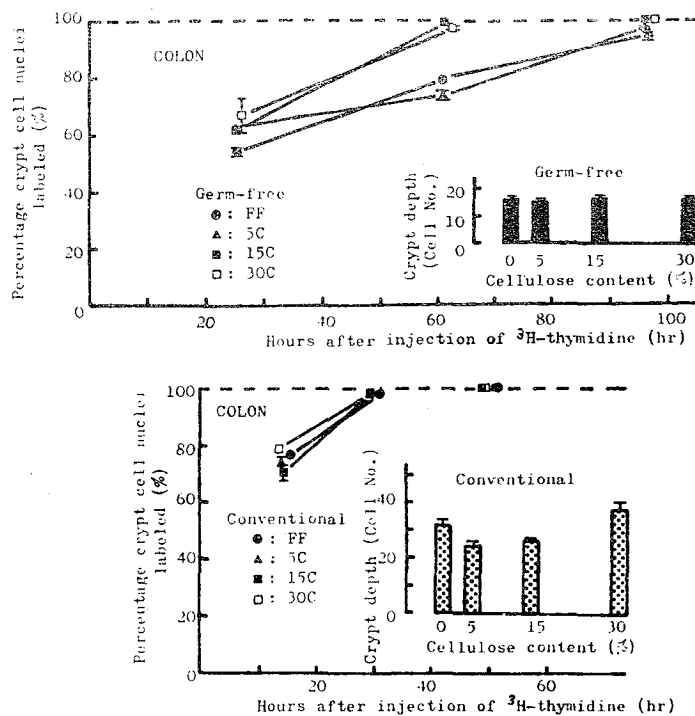


図 2

The migration of the labeled cells along the length of the gastric surface epithelium in germfree and conventional mice fed fiber-free (●), 20% pectin (▲), and 30% cellulose diet (■). Results are means  $\pm$  SE.



3 The migration of the labeled epithelial cells along the length of the crypt in the descending colon of germfree and conventional mice fed graded levels of cellulose diet. Results are means  $\pm$  SE.

表 4 Effect of high-fiber diet on the mitotic activity of colonic crypt cells in germfree and conventional mice.

	Mitotic activity #	
	Germfree	Conventional
Experiment 1		
FF	1.4 $\pm$ 0.2 (6)	1.4 $\pm$ 0.1 (6)
30C	4.7 $\pm$ 0.4* (6)	1.3 $\pm$ 0.2 (6)
Experiment 2		
FF	1.3 $\pm$ 0.2 (5)	1.2 $\pm$ 0.1 (6)
20P	1.5 $\pm$ 0.2 (5)	3.3 $\pm$ 0.4* (6)

Results are means  $\pm$  SE in 60 crypt sections. ( ) = No. of an animals. # = (Mitotic number/Crypt size)  $\times$  100.

\* Significantly different from FF group of each state at  $p < 0.001$ .



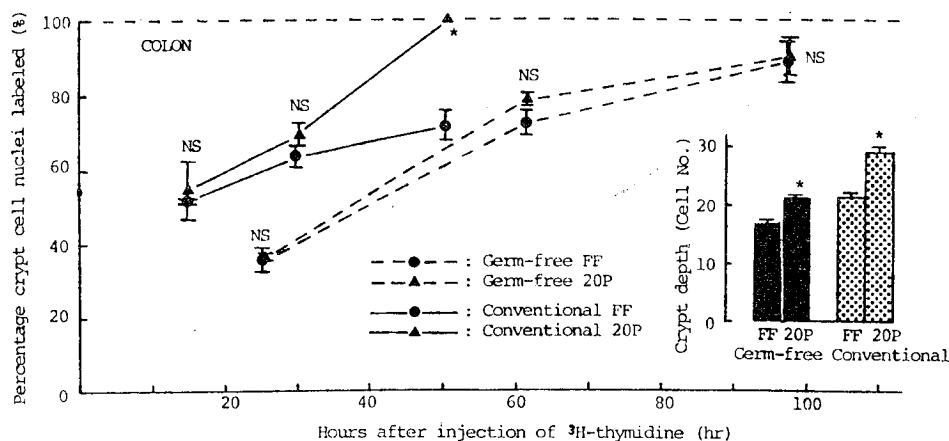


図4 The migration of the labeled epithelial cells along the length of the crypt in the descending colon of germfree and conventional mice fed fiber-free (●) and 20% pectin diet (▲).  
\*: Significantly different from FF group at  $p < 0.01$ .  
NS: Not significant. Results are means  $\pm$  SE.

### 第3章 小腸上皮の機能と細胞の動態におよぼすDF摂取の影響と腸内常在菌その関与

本章においては、小腸上皮細胞の turnover および機能におよぼすDF摂取の影響について、とくに腸内常在菌その関与の面からの検討を行なった。また、小腸上皮細胞の turnover と上皮の膜酵素活性などの機能との関係について明らかにする目的で実験を行なった。

実験食を与えて4週間後にマウスに<sup>3</sup>H-チミジンを腹腔内投与して、空腸中央部を摘出し、常法通りのマイクロオートラジオグラフィーを行ない、第2章と同じ方法で上皮細胞の動態を検討した。また、同時にその付近の空腸部5～7cmを摘出して粘膜をはぎ取り、膜酵素活性を測定した。

#### 1) 空腸上皮細胞の動態におよぼすDF摂取の影響と腸内常在菌その関与

##### ① セルロース添加食の影響

セルロース食での実験では、Germfree 下においてのみ、15C群や30C群で空腸上皮細胞の turnover の亢進がみられた(図5)。しかも、このときの絨毛の長さは有意に短くなっていて(表5)、また、crypt 増殖域での細胞分裂活性が高くなっていた(表6)。

以上のような高セルロース食の効果は、Conventional 下ではまったくみられなかった。

##### ② ペクチン添加食の影響

高ペクチン食によっては、Conventional 下においてのみ空腸上皮細胞の turnover の亢進がみられた(図6)。このときの絨毛の長さは長くなっているため、細胞の移行速度は非常に速くなっていることがわかった(表7)。また、crypt 増殖域での細胞分裂活性が高くなっていた(表6)。

しかし、Germfree下においては、高ペクチン食により絨毛の構成細胞数が増えることも、細胞の turnover の亢進もみられなかった。

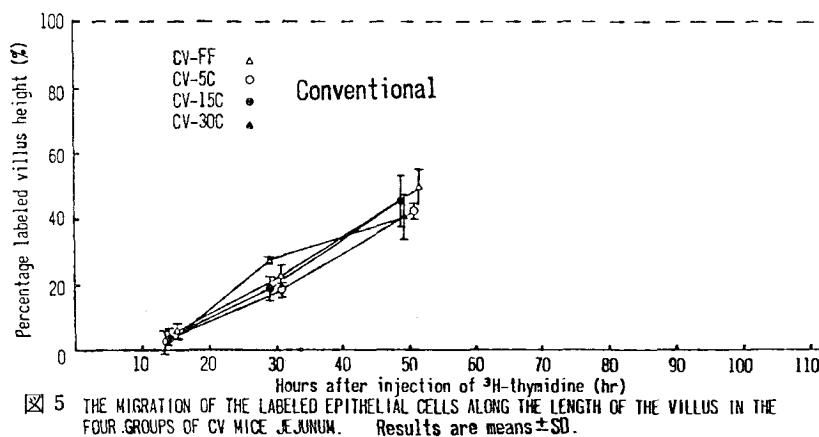
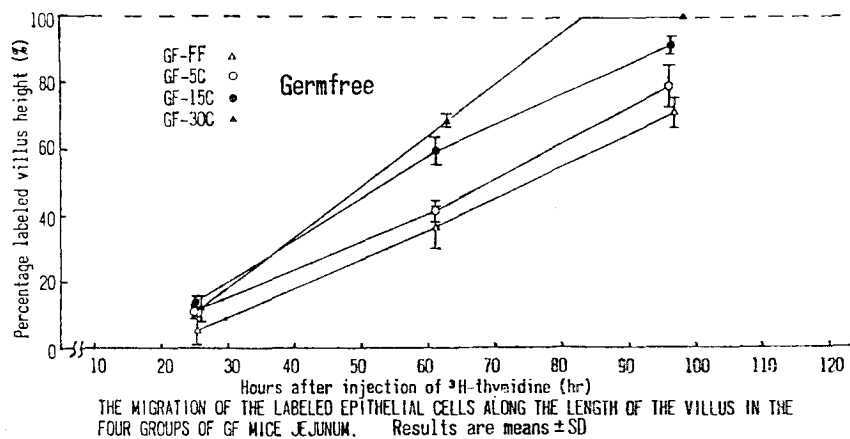


表 5 EFFECT OF GRADED LEVELS OF CELLULOSE DIET ON THE CRYPT AND VILLUS CELL POPULATIONS, LIFE SPAN, AND THE VILLUS MIGRATING SPEED OF JEJUNAL EPITHELIUM IN GERM-FREE AND CONVENTIONAL MICE

	Crypt depth (cell no.)	Villus length (cell no.)	Transit time (hr)		Villus migrating speed (cells/hr) <sup>2</sup>	Life span (hr)
			Crypt	Villus		
GF- FF	16.9 $\pm$ 0.3 <sup>1</sup>	114.7 $\pm$ 3.5	21.5	105.9	1.08	127.4
GF- 5C	17.9 $\pm$ 0.6	109.8 $\pm$ 2.7**	18.0	98.8	1.11	116.8
GF-15C	17.9 $\pm$ 0.6	101.8 $\pm$ 4.3**	12.7	91.8	1.11	104.5
GF-30C	17.4 $\pm$ 0.5	93.3 $\pm$ 3.7**	18.4	64.8	1.44	83.2
CV- FF	17.4 $\pm$ 0.6	84.1 $\pm$ 4.0	11.9	80.6	1.04	92.5
CV- 5C	17.1 $\pm$ 0.4	84.9 $\pm$ 2.0	14.0	87.0	0.98	101.0
CV-15C	17.3 $\pm$ 0.4	91.2 $\pm$ 2.5**	13.7	77.4	1.18	91.1
CV-30C	18.7 $\pm$ 0.7	89.4 $\pm$ 4.0*	11.2	94.5	0.95	105.7

<sup>1</sup> Mean  $\pm$  SE. <sup>2</sup> Villus migrating speed=villus length (cell no.)/villus transit time (hr)

\*:  $p < 0.01$ ; \*\*:  $p < 0.001$ , compared with FF group of each state.

表 6 Effect of high-fiber diet on the mitotic activity of jejunal crypt cells in germfree and conventional mice.

	Mitotic activity #	
	Germfree	Conventional
Experiment 1		
FF	1.5±0.2 (6)	2.2±0.3 (6)
30C	3.4±0.3*(6)	2.4±0.1 (6)
Experiment 2		
FF	1.3±0.2 (5)	1.9±0.2 (6)
20P	1.4±0.3 (5)	4.8±0.3*(6)

Results are means±SE in 60 crypt sections. ( )= No. of animals. # (Mitotic number/Crypt size) x 100.  
\* Significantly different from FF group of each state at p<0.001.

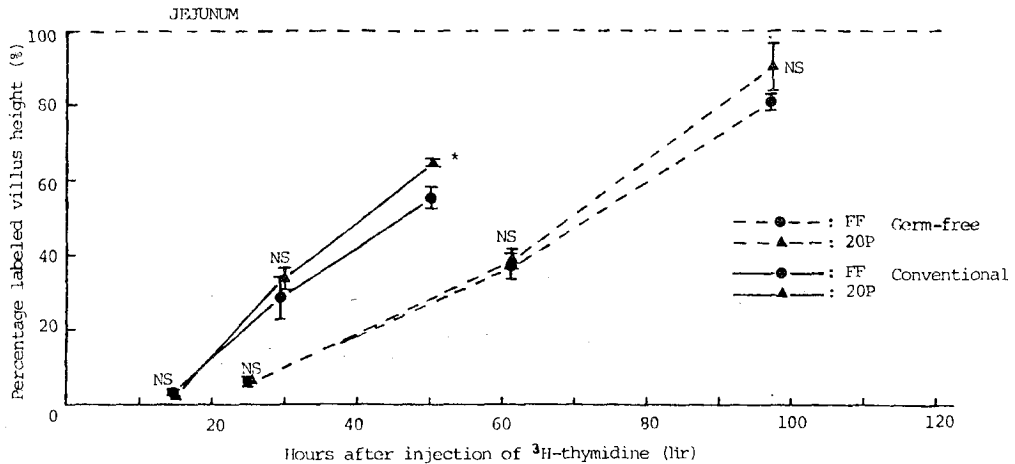


图 6 The migration of the labeled epithelial cells along the length of the villus in the mid-jejunum of germ-free and conventional mice fed fiber-free (●) and 20% pectin diet (▲)  
\* p<0.05, compared with FF group of each state. NS: Not significant.  
Results are means±SE.

表 7 Effect of high-pectin diet on the crypt and villus cell populations, life span, and the villus migrating speed of jejunal epithelium in germ-free and conventional mice

	Germ-free		Conventional	
	Fiber-free	20% Pectin	Fiber-free	20% Pectin
Crypt depth (Cell No.)	16.1±0.2 <sup>a</sup>	15.9±0.3	19.8±0.6	26.3±1.2*
Villus length (Cell No.)	98.9±2.2	91.3±3.3	74.8±3.5	97.8±3.4*
Transit time (hr)				
Crypt	21.82	23.10	11.73	12.65
Villus	96.11	85.30	69.10	58.01
Life span (hr)	117.93	108.40	80.83	70.66
Villus migrating speed (cells/hr)	1.03	1.07	1.08	1.69

<sup>a</sup> Means±SE. Villus migrating speed = Villus length (cell No.)/Villus transit time (hr).  
\* p<0.001, compared with fiber-free group of each state.

## 2) 空腸粘膜酵素活性におよぼすDF摂取の影響と腸内常在菌その関与

比活性でみた酵素活性は、一般に Conventional 下でよりも Germfree 下で高い (図7)。maltase については、Germfree 下の高セルロース食と高ペクチン食によって高くなり、leucynaphthylamidase については、Conventional 下の高セルロース食によって高くなり、alkaline phosphatase については、Germfree の高セルロース食により高くなるという結果が得られた。以上のように酵素によってその活性は異なる影響をうけており、小腸粘膜における機能と上皮細胞の turnover との間に必ずしもきまった関係がないことが示された。その理由として考えられることは、DF の物理化学的性質の違いや腸内常在菌そのによって二次的に産生されるたとえば fermentation products の差などが、腸粘膜細胞の動態や種々の酵素にそれぞれ特異的な影響を与えているものと考えられ、複雑な様相を呈している。

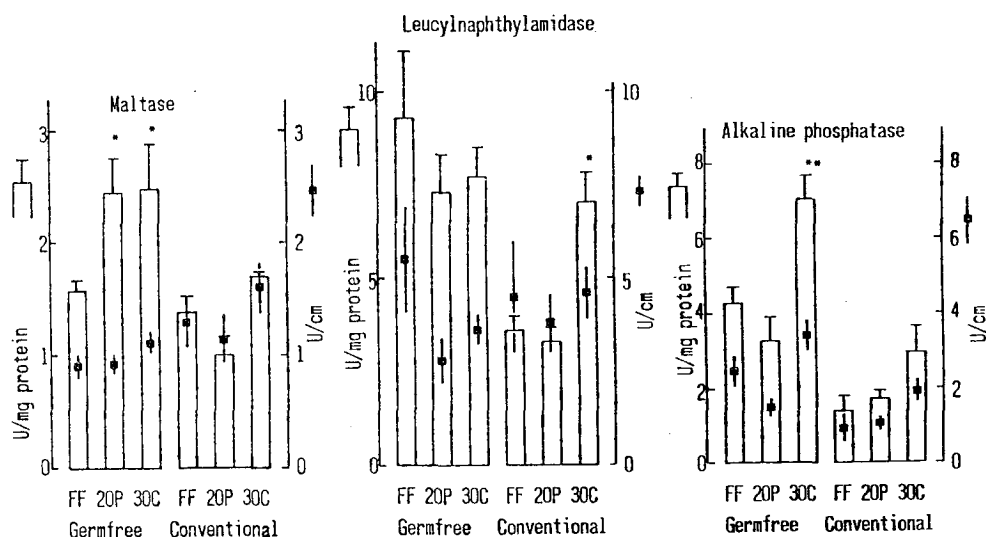


図7 Effect of high-fiber ingestion on the mucosal enzyme activity in germfree and conventional mice jejunum. Results are means  $\pm$  SE. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , compared with FF group of each state.

## 第4章 消化管からのステロイド排泄におよぼすDF摂取の影響と腸内常在菌その関与

第3章までは、主として消化管粘膜の形態や機能および上皮細胞の動態についてDF摂取の影響をみてきた。一方、消化管腔内では中性ステロールや胆汁酸が腸肝循環を行っており、これがDFによって影響を受けることによりステロイド代謝が変動すると考えられている。しかし、消化管腔内は単純ではなく、腸内細菌そのなどの影響があることを無視できない。そこで本章においては、ステロイドの糞中への排泄におよぼすDF摂取の影響について、腸内常在菌その関

与の面から検討する目的で以下の実験を行なった。

凍結乾燥糞便 250 mg をケン化して、中性ステロール画分と胆汁酸画分とに分けた後、胆汁酸画分は Amberlite XAD-2 で精製した後に抱合型と遊離型とに分け、ガスクロマトグラフィーによりそれぞれ測定した。

## 1) セルロース添加食の影響

Germfree 下では、セルロース含量が増すにつれて中性ステロールの排泄も胆汁酸の排泄も増加し、30C 群では中性ステロール排泄の増加は FF 群の 3.8 倍、胆汁酸排泄の増加は FF 群の 2.6 倍までになった (表 8)。一方、Conventional 下では、5C 群と 15C 群では中性ステロール排泄の増加はみられず、胆汁酸排泄の増加のみみられた。しかし、30C 群という高セルロース食になると、中性ステロールも FF 群の 2.3 倍に増加し、胆汁酸も FF 群の 1.7 倍に増加した。胆汁酸の抱合型の割合は、一般的に Germfree 下の方が Conventional 下より大きかったが、Germfree 下でセルロース含量が多くなるほど低下することが認められた。しかし Conventional 下でのセルロース食によっては不変であった。このような現象の起こる理由として考えられるのは Germfree 下ではセルロースにより上皮細胞の turnover が亢進しているために、再吸収され腸粘膜において遊離型になった胆汁酸が脱落によって糞中に増加したという可能性である。しかし、このメカニズムについては今後さらに検討の必要があろう。

表 8 Effect of graded levels of cellulose ingestion on the fecal steroids excretion in germfree and conventional mice

Group	Body weight	Food intake	Fecal dry weight	Neutral sterols		Bile acids		
				Cholesterol excretion	Coprostanol excretion	Total excretion	Percentage of conjugated form	
	g	g/day	mg/day	mg/day	mg/day	(mg/day) (µg/mg feces)	%	
GF-FF (6)	33.2	3.9	202	0.148	ND	0.537	2.656	88.8
GF-5C (6)	33.3	4.9	784	0.322	ND	0.990	1.263	81.2
GF-15C (6)	33.2	4.5	1110	0.211	ND	1.057	0.952	76.2
GF-30C (6)	31.2	5.7	2013	0.565	ND	1.373	0.682	52.2
CV-FF (6)	33.2	4.4	357	0.118	0.008	0.739	2.071	45.6
CV-5C (6)	37.1	4.6	584	0.052	ND	0.992	1.699	49.4
CV-15C (6)	35.7	4.6	1013	0.073	tr.	1.388	1.370	59.6
CV-30C (6)	33.3	6.4	2308	0.288	tr.	1.269	0.550	54.3

Results are expressed as mean value. Figures in parentheses show the number of animals. ND: Not detectable. tr.: trace amount.

## 2) ペクチン添加食の影響

Germfree 下では、高ペクチン食により中性ステロールの排泄は FF 群の 4.1 倍に増加したが、胆汁酸の排泄は FF 群のわずか 1.2 倍に増加したにすぎなかった (表 9)。一方、Conventional 下では、高ペクチン食により中性ステロールの排泄は FF 群の 1.6 倍に増加したにすぎなかったが、胆汁酸の排泄は FF 群の 4.6 倍に増加した。また、一般に抱合型の割合は明らかに Germfree 下の方が Conventional 下の方よりも大きかったが、Germfree 下での 20P 群で変化はなかった。しかし Conventional 下の 20P 群では抱合型胆汁酸が激減することが認められた。

表 9 Effect of high-pectin ingestion on the fecal steroids excretion in germfree and conventional mice.

Group	Body weight	Food intake	Fecal dry weight	Neutral sterols		Bile acids		
				Cholesterol excretion	Coprostanol excretion	Total excretion		Percentage of conjugated form
	g	g/day	mg/day	mg/day	mg/day	mg/day	μg/mg feces	%
GF-PF (5)	29.0	3.7	380	0.076	—	0.326	0.859	91.2
GF-20P (5)	27.9	4.3	1511	0.314	—	0.383	0.253	88.4
CV-PF (5)	36.7	4.9	337	0.068	0.004	0.208	0.616	54.0
CV-20P (5)	33.2	5.5	1449	0.118	—	0.955	0.659	9.4

Results are expressed as mean value. Figures in parentheses show the number of animals. ND: Not detectable. tr.: trace amount.

## 第 5 章 DF の栄養生理的効果発現における腸内常在菌そう関与のメカニズム

第 1 章より第 4 章までの成績において、DF の栄養生理的効果は、DF の種類（セルロース とペクチン）によって異なったしかたで発現することが示された。そして、腸内常在菌の関与によってその効果が著しく修飾されることが明らかになった。そこで、本章では、そのメカニズムを知る一環として、Conventional 下でこれら DF はどれほど分解され、どんな Bacterial products が産生されているかを検討した。

### 1) Conventional マウスの消化管におけるセルロースの分解

飼料中ならびに糞便中の ADF を測定することによって、1 日あたりのセルロースの摂取量と排泄量、およびセルロースのみかけの分解率を求めた（表 10）。5 C 群では 32.4% が、15 C 群では 19.3% が、そして 30 C 群では 21.8% が、それぞれ腸内菌により分解されていることが示された。

表 10 Bacterial degradation of ingested cellulose in the intestine of conventional mice.

Group	Food Intake	(A) ADF Ingested	Feces Excreted	(B) ADF Excreted	(A)-(B)	Corrected (A)-(B)	Apparent Digestibility
	g/day	mg/day	g/day	mg/day	mg/day	mg/day	%
CV-PF	4.3	4.39	0.329	5.32	-0.93	0	—
CV-5C	4.6	252.86	0.627	171.76	81.10	82.03	32.4
CV-15C	4.8	731.18	1.054	590.70	140.48	141.41	19.3
CV-30C	6.5	1993.42	2.148	1560.18	433.24	434.17	21.8

Results are expressed as the mean value of dual analysis in pooled sample of each group.

※ ADF = Acid Detergent Fiber.

## 2) Conventional マウスの消化管におけるペクチンの分解

飼料中ならびに糞便中のペクチンを抽出し、そのなかのガラクトツロン酸を定量することにより、1日あたりのペクチンのガラクトツロン酸としての摂取量と排泄量、そしてペクチンのみかけの分解率を求めた(表11)。20P群では48.2%のペクチンが腸内菌により分解されていることが示された。

表11 Bacterial degradation of ingested pectin in the intestine of conventional mice.

Group	Food Intake	(A) Pectin*	Feces Excreted	(B) Pectin*	(A)-(B)	Apparent Digestibility
		Intake		Excreted		
	g/day	mg/day	g/day	mg/day	mg/day	%
CV-FF	4.9	0.0	0.337	0.0	0.0	-
CV-20P	5.5	586.9	1.449	304.2	282.7	48.2

Results are expressed as the mean value of dual analysis in pooled sample of each group.

\*: Pectin is expressed as galacturonic acid.

## 3) Conventional マウス消化管におけるアンモニアとVFAの産生におよぼすDF摂取の影響

実験食を4週間与えたマウスを屠殺して、大腸(盲腸+結腸)の内容物を集めて、試料とした。腸内容物のpHは、セルロース食によっては影響を受けず、ペクチン食によって低下する傾向がみられた(表12)。アンモニア態窒素( $\text{N}\mu\text{g}/\text{ml}$ )でみたアンモニア濃度は、セルロースとペクチンの両方の高DF食により有意に高くなることが認められた。ただ、腸内容物乾燥重量あたりで表わすと( $\text{N}\mu\text{g}/\text{mg dry wt.}$ ),セルロース食によっては低くなり、ペクチン食によっては不変である値を示したので、2種のDFの間でその増加の内容が異なることが示された。

表12 Effect of dietary fiber on ammonia production in the intestine of conventional mice.

	Intestinal content (dry wt. mg)	pH	Ammonia (N)	
			( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	( $\mu\text{g}/\text{mg dry wt.}$ )
CV-FF (6)	27.6 $\pm$ 2.6	7.50 $\pm$ 0.09	2.07 $\pm$ 0.36	0.72 $\pm$ 0.09
CV-5C (6)	46.8 $\pm$ 8.3	7.22 $\pm$ 0.05	3.14 $\pm$ 0.33	0.73 $\pm$ 0.06
CV-15C (6)	103.5 $\pm$ 15.5	7.38 $\pm$ 0.05	3.62 $\pm$ 0.24**	0.39 $\pm$ 0.05*
CV-30C (6)	160.0 $\pm$ 26.2	7.11 $\pm$ 0.05	4.23 $\pm$ 0.30**	0.33 $\pm$ 0.07**
CV-20P (6)	74.2 $\pm$ 15.2	6.84 $\pm$ 0.32	4.91 $\pm$ 0.51*	0.73 $\pm$ 0.13
GF-FF (5)	219.2 $\pm$ 20.3	7.62 $\pm$ 0.04	1.24 $\pm$ 0.04*	0.06 $\pm$ 0.00**

Results are means $\pm$ SE. Figures in parentheses show the number of animals.

\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , compared with CV-FF group.

Volatile Fatty Acid (VFA) の1日あたりの推定産生量 (mg/day) は、セルロース食により低下する傾向が、またペクチン食によっては増加する傾向がみられた(表13)。この結果から、ペクチン食摂取によって、腸管内 fermentation が盛んに行なわれていることが示された。

これらの結果は、第1章から第4章までに得られた消化管に対するDFの効果が、DFの種類の違いおよび腸内常在菌そのの有無によって異なる理由を知る上で有用な情報を提供するものであるが、そのメカニズムを完全に解明したとはいえず、今後の課題として残された。

表 13 Effect of dietary fiber on volatile fatty acids production in the intestine of conventional mice.

	FF (5)	5C (6)	15C (6)	30C (6)	20P (6)
Acetic acid	20.0%	18.0%	11.4%	8.6%	12.1%
Propionic acid	7.2	4.2	6.0	tr.	6.7
iso-Butyric acid	3.1	tr.	0	6.7	0
n-Butyric acid	8.8	7.0	4.8	5.0	8.0
iso-Valerianic acid	4.3	3.5	tr.	3.2	4.8
n-Valerianic acid	19.1	16.2	23.9	20.1	22.9
iso-Caproic acid	17.9	25.5	21.7	27.6	18.6
n-Caproic acid	19.7	24.9	30.7	28.3	27.1
Total					
(mg/ml)	0.426 ± 0.039	0.267 ± 0.020**	0.247 ± 0.016**	0.218 ± 0.027**	0.361 ± 0.036
(mg/mg dry mass)	0.171 ± 0.031	0.069 ± 0.013*	0.028 ± 0.004**	0.017 ± 0.004**	0.079 ± 0.026
Estimated VFA α					
Production (mg/day)	53.6 ± 12.7	44.9 ± 9.0	29.5 ± 4.2	39.5 ± 9.4	118.6 ± 40.1

α: Calculated figures, considering the feces which excretes daily being made by intestinal dry mass. \*, p < 0.05, \*\*, p < 0.01, compared with FF group.

Results are expressed as mean or mean ± SE. tr.: trace amount.

## 第6章 総合的考察

本研究においては、DFとしては、その物理的性質と腸内細菌による分解性の異なると考えられるものの代表として、セルロースとペクチンの2種を取り上げ、消化管におよぼす栄養生理的効果について検討した。また、この場合腸内常在菌そのがいかなる役割を果しているかを明らかにする目的で無菌動物を用いて実験を行なった。

第1章においては、DF摂取による消化管の形態的機能的変化をマクロな面から検討を行なった。滯腸時間や消化管のサイズ等に関して、DFはそれ自体の物理的効果のほうが大きく、腸内菌そのの関与はそれほど大きくないと考えられた。

ところが、第2章と第3章の実験で示されたように、高DF食により小腸や結腸の上皮細胞の turnover が著しい影響を受けることが示された。すなわち、高セルロース食(15%および30%)によっては Germfree 下でのみ、高ペクチン食(20%)によっては Conventional 下でのみ上皮細胞の turnover の亢進が認められた(表14)。以上の場合、いずれも crypt における細胞増殖が盛



表 14 EFFECT OF DIETARY FIBER ON THE EPITHELIAL CELL RENEWAL OF ALIMENTARY TRACT

	Cellulose diet			Pectin diet
	5%	15%	30%	20%
Germ-free				
Gastric surface epithelium	ND	ND	.	.
Jejunal epithelium	.	+	++	.
Colonic epithelium	.	++	++	.
Conventional				
Gastric surface epithelium	ND	ND	.	.
Jejunal epithelium	.	.	.	+
Colonic epithelium	.	.	.	++

.: Unchanged. +, ++: Increased cell renewal. compared with FF group of each state.  
ND: Not determined.

んになった点は共通していたが、絨毛あるいは crypt の構成細胞数におけるレスポンスが異なっていたことなどから、2種のDFの作用のメカニズムは異なると推察された。すなわちセルロースは、腸管に多量にしかも長く存在することにより、腸内細菌の関与と無関係にそれ自体が、小腸や結腸の上皮細胞の turnover を速めたと考えられた。一方、ペクチンの場合は、それ自体では小腸や結腸の上皮細胞の turnover を速める効果を持たないが、これが Conventional 下であると turnover を速める効果を有することが示され、腸内細菌による fermentation によって生成した物質などによってこの作用が発現するものと考えられた。胃粘膜においてはDF摂取の効果がみられなかったが、この理由として食物残渣の滞腸時間が小腸や結腸ほど長くないためと推察された。

DF摂取により消化管の上皮細胞の turnover がどのように影響を受けるかという基礎的現象についての知見は得られたが、栄養・生理的な観点からのこうした turnover の変動の意義については必ずしも明らかとはいえない。事実第3章の結果から、小腸粘膜のタンパク 1mgあたり、あるいは小腸 1cmあたりでみた粘膜の酵素活性のDF摂取による変動と、DF摂取による上皮細胞の turnover の変動とが必ずしもパラレルでないことが示され、DFの影響が複雑であることを示唆している。

一方、セルロースには胆汁酸結合能があり、ペクチンにはないとされているが、糞中への胆汁酸の排泄をみると Germfree 下においてはこのことを支持するような結果が得られた。しかし、Conventional 下においてはこのように単純ではなかった。Conventional 下のセルロース食では胆

胆汁酸排泄の増加の割合が Germfree 下よりも少なかった。この理由としては、滞腸時間が CV-30C 群では短いために吸着能が十分に発揮されなかったことが考えられる。また、Conventional 下ではセルロースの分解があるのに対し、Germfree 下ではそれがいないためにセルロースの胆汁酸吸着能がまさっていたとも考えられる。ペクチン食の場合は、Conventional 下で滞腸時間がたとえ短くても、腸内菌の fermentation による生成物のなかに胆汁酸を排泄する働きをするものがあつたために糞中への胆汁酸の排泄が増えたとも考えられよう。

第1～4章で得られた現象のメカニズムについて第5章において若干の検討がなされ、セルロースとペクチンの分解の度合あるいはまた fermentation products についての成績を得て、ある程度これまでの章で得られた DF の違いによる栄養生理的效果の違いを説明することができた。しかしながら、そのメカニズムを十分に明らかにしたとはいえず、今後の課題として残された。

以上のように、本研究は、DF 摂取による消化管の栄養生理的レスポンスが、実際には腸内常在菌そうのはたらきを介して現われているという基本的な姿を無菌動物を用いることにより明らかにしたといえる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

最近、欧米先進国で発症率がたかい大腸癌や大腸憩室症などの疾患がDietary Fiber(以下DFと略：食物繊維)の摂取量の低下と深い関係のあることが疫学調査で示され、にわかにその生理的な面からの見直しが注目されている。いうまでもなく腸内には常在菌そうがあり、これがさまざまな働きをしており、DFの生理作用の発現にも関与していることが推測されている。しかし、どのような点で、どの程度これに関与しているかについては、必ずしも明らかではない。本研究はこの点に注目し、DFが消化管におよぼす栄養生理的效果を追求し、その基本的な問題のいくつかを明らかにしたものである。著者はまず、腸内常在菌が存在していないGerm free動物(無菌動物)とConventional動物(通常動物)を実験動物として用い、この両者を比較することにより、DFが消化管におよぼす栄養生理的效果への腸内常在菌そうの関与についての情報をえようというユニークな研究方法を用いた。また、DFとしては物理的性質と腸内細菌による分解性が異なるとされるセルロース(水不溶性で腸管内で“slightly fermentable”)とペクチン(水溶性で腸管内で“readily fermentable”)の2種をとりあげることにした。上記のような研究方法で、まずDF摂取による消化管の形態的、機能的変化をマクロな面から検討し滞腸時間や消化管のサイズなどに対しては、DFそれ自体の物理的效果のほうが大きく、腸内常在菌そうの関与はそれほど大きくないことを見出した。ところが高DF食は小腸や結腸の上皮細胞のturnoverが著しい影響をうけていることが分り、しかもそれはDFの種類と腸内常在菌そうの有無によって著しく異なることが明らかにされた。すなわち同じDFでもセルロースとペクチンでは影響のしかたが違い、作用のメカニズムの異なることを示唆する結果をえた。このことは、胆汁酸の糞中排泄作用についても認められ、DFの影響が単純でないことを示した。

著者はさらにこのような現象の起るメカニズムの解明にとりくみ、セルロースとペクチンのfermentation productsのちがいのあることを見出し、このことが、セルロースとペクチンの作用のしかたの一部を説明するものであることを示した。

本研究はDFの消化管の形態や機能におよぼす栄養生理的效果を検討する上で、これまでブラック・ボックスであった腸内常在菌の関与に光をあて、いくつかの新知見を示したものであり、この分野における先駆的な研究であると評価できる。よって審査員一同は、著者に対し、農学博士の学位を授与するに値すると判断した。